BINDWEEFSEL EN STOFWISSELING

DOOR

G. C. HERINGA, D. B. KROON, H. NEUMANN EN J. H. C. RUYTER

Histologisch Laboratorium, Amsterdam.

Bindweefsel is de naam van een familie van weefsels, welker gemeenschappelijke afkomst ligt in het mesenchym en welke tezamen gekarakteriseerd zijn door het bezit van meer of minder rijkelijke tussenstof tussen de cellen. Uit didactische overweging zijn we wel gewend de bindweefsels te onderscheiden in enerzijds zulke, welker functie in hoofdzaak bepaald wordt door de tussenstof, anderzijds zulks waarin de cellen de functiedraagsters zijn [1]). Als regel wordt dan vermeld, dat de eerstgenoemde groep (vezelbindweefsel, kraakbeen, been) in het organisme een mechanische taak vervult, terwijl de laatstgenoemde (reticulair bindweefsel, vetweefsel, bloed, weefsels, waarvoor de naam bindweefsel dus eigenlijk niet geldt) aandeel heeft in de stofwisseling. Dat deze scheiding naar functie te schematisch is, blijkt al aanstonds als men denkt aan het aandeel van het beenweefsel in de algemene calciumstofwisseling en — omgekeerd — aan het feit, dat vetweefsel en bloed in het organisme herhaaldelijk benut worden voor mechanische functie. Deze uitzonderingen echter zijn van zo grove dimensie, dat ze eerder als de traditionele bevestigingen van de regel zouden kunnen gelden.

Ernstiger hindernissen komen op den weg van onze schoolse indeling, wanneer we bij de beschouwing van tussenstof- of mechanische bindweefsels niet alleen op de vezelstof letten maar ook op de amorphe grondstof, de optisch lege materie, die aan het vezelarme mesenchym zijn „gelatineuze" vormbestendigheid, aan het kraakbeen zijn elastische vastheid geeft en — met kalkwater volgens RANVIER uittrekbaar — in de pees de afzonderlijke collageenfibrillen volgens de terminologie der oudere histologen in bundels samen „kit". Dat een dergelijk mucoid (verzamelnaam voor een ganse familie van glycoproteiden met wisseling zowel van den eiwit- als van den koolhydraatcomponent) ook

1) Bij het afsluiten van dit artikel namen wij kennis van een artikel van CARLA ZAWISCH (Acta Anatomica, *VI*, 433, 1948) waarin — eveneens uit didactische overwegingen — een nieuwe indeling van bindweefsels wordt voorgesteld. Onze bezwaren tegen de door ons genoemde indeling gelden in nog hogere mate tegen de door ZAWISCH voorgestelde indeling.

in een „gewoon", „volwassen" vezelrijk bindweefsel als van de huid voorkomt, is o.a. aangetoond door VAN LIER, leerling van PEKELHARING. Langen tijd hebben deze mucoiden weinig aandacht gehad; voor het huidmucoid hadden eigenlijk alleen de leerlooiers belangstelling, tot plotseling door de ontdekking van het hyaluronidase-ferment deze zelfde mucoiden getrokken zijn in de belangstelling zowel der biologen als der klinische medici. De belangrijkheid der glycoproteiden blijkt — zoals door GRAY reeds geruimen tijd geleden is betoogd — reeds te beginnen bij de eicel. Een glycoproteid — polymeer van hyaluronzuur — vormt, althans in hoofdzaak, de ectoplasmamembraan der zoogdiereneicel: De hyaluronidase, bereid uit de testis en in staat in vitro het polymeer te splitsen, resp. hyaluronzuur vrij te maken, heeft in vitro door zijn aanwezigheid in het sperma tot functie de eimembraan voor het bevruchtende spermatozoid doorgankelijk te maken. Door GRAY is destijds het gedrag van dit ei-ectoplasma in de verdere ontwikkeling nagegaan. Hij beschrijft hoe bij de klieving van de eicel haar ectoplasma zich als een scheidingslaag tussen de blastomeren voortzet en daarbij zijn vastheid en elasticiteit steun- en op de cellen vormgevend werkt. Bijzonder belangwekkend is voor onze gedachtengang de continuiteit, die GRAY door physisch-chemisch onderzoek weet te leggen tussen deze primitieve tussenstof uit de eerste stadia der ontogenie en de mucoide grondstof van het bindweefsel in onto- en phylogenetisch verder ontwikkelde diervormen. Door deze onderzoekingen destijds heeft GRAY bij voorbaat de verklaring gegeven voor die merkwaardige vondst van de laatste jaren: dat de hyaluronidase, uit testis (resp. sperma) bereid, ook een losmakende invloed uitoefent op het bindweefsel; het verhoogt de permeabiliteit van het weefsel, bevordert de verplaatsing en resorbtie van vocht en vergemakkelijkt ook de uitbreiding van bacteriën [2]).

De ontdekking van deze physiologische betekenis van de mucoiden als bestanddeel van de bindweefseltussenstof opent een geheel nieuw hoofdstuk in de histologie van de tussenstofbindweefsels. Is er altijd nog een zekere weerstand te overwinnen om de histologie te bevrijden van traditionele beperking tot uitsluitend morphologie en is zodoende de studie van het ontstaan der tussenstof nooit object der histochemie geworden op zodanige wijze, dat de fibrinestolling de aandacht had en heeft der biochemici — ook niet nadat het vezelkarakter van het collageen röntgenspectrographisch is vastgesteld en door MAXIMOW, NAGEOTTE, FAURÉ FREMIET, HERINGA, ROULET en vele anderen morphologische argumenten ten gunste van een stollingshypothese voor het collageen zijn aangevoerd — thans is het onmogelijk de noodzaak van een op modernen leest geschoeid histochemisch onderzoek van de tussenstof langer te miskennen. We weten thans, dat naast het optisch zichtbare, vezelvormige

2) Een biologisch belangwekkende bijzonderheid is, dat sommige bacteriën zelf hyaluronidase bereiden. Zij bezitten dus hierin een nuttige aanpassing aan hun parasitaire leefwijze, waartegen eventueel het aangevallen organisme zich door de vorming van een anti-hyaluronidase wapent.

collageen het mucoid als tweede component een biologisch belangrijke rol in het tussenstofbindweefsel speelt. En wie — zij het uit didactische overwegingen — gesuggereerd door de naam „bindweefsel" aan de vormvastheid van de tussenstof de gedachte van mechanische functie zou willen blijven verbinden, moet zich dan wel terdege bewust worden, dat door die tweede component (het mucoid) naast de traditioneel-statische meer biochemisch-dynamische overwegingen in zijn voorstellingswijze zullen moeten gaan meespreken.

Reeds zijn enige berichten in de literatuur verschenen, aangevend, dat tussen collageen en mucoid in biochemischen zin een of andere betrekking bestaat. Voor zover mij bekend heeft KRUYT als eerste een dergelijke gedachte uitgesproken in de veronderstelling, dat wellicht collageen een coacervaat zou zijn tussen een gelatineachtig eiwit en een mucoid. In de door KRUYT's leerling DE WILLIGEN bewerkte dissertatie kon deze veronderstelling geen bevestiging vinden. Bij BLIX vinden we haar in nieuwe bewerking terug. Na uitgebreide onderzoekingen over hyaluronzuurcomplexen en hun splitsingsproducten oppert BLIX de hypothese, dat collageen zou ontstaan door verbinding van een scleroproteid en een mucoid, beiden met staafvormige moleculen.

In HERINGA's laboratorium werkten LEYNS en VAN WALBEEK over het mucoid als bestanddeel van het bindweefsel van het hoornvlies. Zij toonden aan, dat de cornea aan haar hoog mucoidgehalte de eigenschap dankt in zuiver water tot een veelvoud van haar volume op te zwellen (verg. COGAN). Zij legden daarbij tevens verband tussen mucoid, watergehalte en optische eigenschappen (doorzichtigheid, dubbelbreking) van het hoornvlies. Bij microscopisch onderzoek van de cornea in een toestand van matige zwelling stelden zij vast, dat de wateropname niet plaats vond *tussen,* maar *in* de collageenbundels, welker optische homogeniteit daarbij *niet* teloor ging. Uit deze waarneming moesten zij tot de gevolgtrekking komen, dat in collagene fibrillen vezeleiwit en mucoid ruimtelijk zodanig innig gemengd zijn, dat de aanwezigheid van mucoid binnen in de fibrillen als inter- en misschien zelfs wel intramicellair moet worden aangenomen. Volgens de röntgenspectrographische analysen is niet meer dan ongeveer 40 % van de materie van de vezelstof in de kristallijne micellen onder te brengen. In het amorphe deel van de vezel zou voor het mucoid stellig een plaats zijn te vinden.

Op geheel andere wijze is tussen vezelstof en mucoid verband gelegd door HERINGA & WEIDINGER. Volgens hun bevindingen bestaat er in het embryonale mesenchym en in het zich daaruit ontwikkelende huidbindweefsel tussen den toestand en de hoeveelheid der vezelstof ener- en het (uit het waterbindingsvermogen af te leiden) mucoidgehalte anderzijds a.h.w. een antagonisme en wel in dien zin, dat het zich bevinden van de vezelstof in haar (voor-)stadium „reticuline" samengaat met relatief rijkelijk mucoid, terwijl naar gelang het reticuline tot collageen „rijpt" het zwelbaar mucoid in hoeveelheid afneemt.

Een verband tussen den toestand der vezelstof en de aanwezigheid van mucoid (nagegaan zowel door waterbindingsbepaling als door metachromatische

kleuring met toluidineblauw) blijkt verder uit enige onderzoekingen over de beïnvloeding van bindweefsel door geslachtshormonen. Deze hormonen kunnen in het bindweefsel van organen, die in bijzondere mate aan hun werking onderhevig zijn, kenmerkende veranderingen te voorschijn roepen. Deze bestaan hierin, dat de vezelbundels opgesplitst worden in sterker argentophiele fibrillen, welke dan gescheiden zijn door ruimten, gevuld met een — blijkens de toluidineblauwkleuring — mucoidhoudende, vochtrijke materie (prostaat: HERINGA & DE JONGH; hanekam: CHAMPY; regeneratie van de hanekam: CHAMPY, HERINGA & WEIDINGER, SZIRMAI). Voor de hanekam heeft SZIRMAI gevonden, dat de vezelstof in de kam — hoewel bij de haan en de kapoen beide röntgenspectrographisch als collageen te identificeren — desalniettemin in physisch-chemisch opzicht (zwellingseigenschappen) door de hormonale beïnvloeding aanmerkelijke wijzigingen ondergaat. Het is waarschijnlijk, dat deze afwijking in het gedrag der vezelstof haar verklaring zal moeten vinden in een primair optredende wijziging in den mucoidcomponent. Onafhankelijk van de juistheid van deze laatste veronderstelling is het waarschijnlijk, dat de hormonenwerking aangrijpt op de stofwisseling der bindweefselcellen.

Door de laatstgenoemde onderzoekingen zou dus het mucoidrijke bindweefsel een tussenstofbindweefsel blijken te zijn met bijzondere betrekkingen tot de stofwisseling.

ONDERZOEKOBJECT

Een bijzonder geschikt object tot bestudering van homonaal verwekt mucoidrijk bindweefsel is het bindweefsel, dat bij de caviae tijdens de zwangerschap ontstaat op de plaats van de synchondrosis ossium pubis en dat dienstig is tot verwijding (diastase, relaxatie) van de bekkenuitgang voor het doorlaten van de relatief grote jongen bij de baring.

In een reeks onderzoekingen is dit verschijnsel in de eerste plaats door HISAW en zijn leerlingen zowel hormonologisch als histologisch onderzocht.

Door het onderzoeklaboratorium van Organon (Oss) zijn aan de in Amerika verkregen resultaten verschillende belangrijke feiten toegevoegd (DE FREMERY, TAUSK, VAN DER MEER). Het geheel is een complex van gebeurtenissen, welker samenhang en onderlinge verhoudingen nog geenszins volkomen zijn opgehelderd. In ieder geval is er aanleiding daarin twee afzonderlijke phasen te onderscheiden: een eerste, kunstmatig op te wekken bij gecastreerde dieren door reeksgewijze inspuiting van oestrische hormonen (dimenformon). Het bestaat uit resorbtie van kraakbeen en het op de plaats daarvan ontstaan van een bindweefselverbinding. Het weefsel hiervan is celrijk (tijdens het ontstaan vindt men talrijke mitosen); de tussenstof bevat dicht dooreengevlochten vezelbundels (Fig. 1, 2); toluidineblauw toont de aanwezigheid van metachromatisch kleurend mucoid. De tweede phase geschiedt vlak voor de partus (Fig. 3, 4) en is bij een dier, waarin de eerste phase tot ontwikkeling is gekomen, kunstmatig op te wekken door inspuiting van een door HISAW c.s. gevonden, afge-

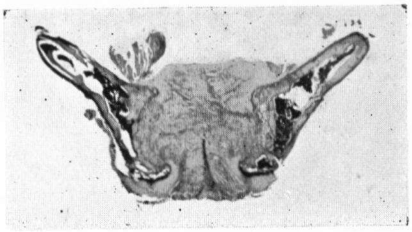


Fig. 1. Symphysis Cavia. Begin zwangerschap. Haem.-Eos. Vergr. 7 ×

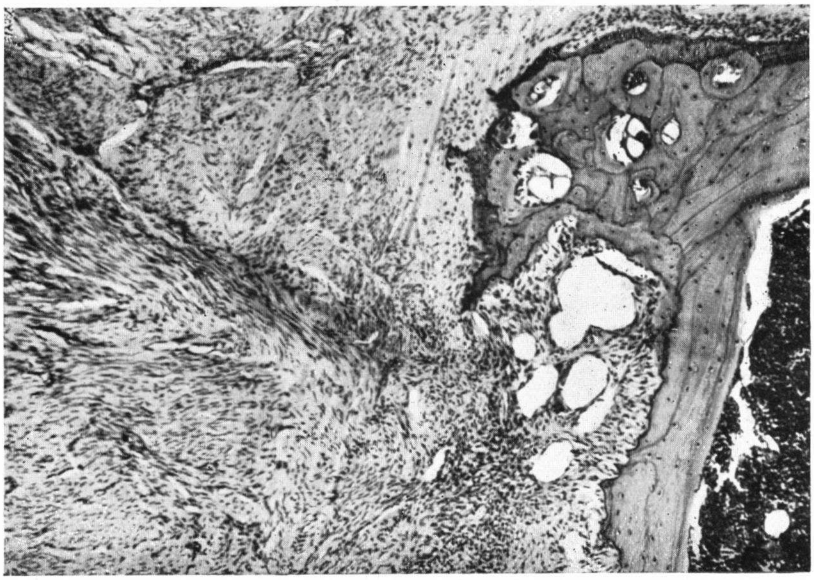


Fig. 2. Als fig. 1. Vergr. 93 ×



Fig. 3. Symphysis Cavia, onmiddellijk na de baring. Vergr. 3½ ×

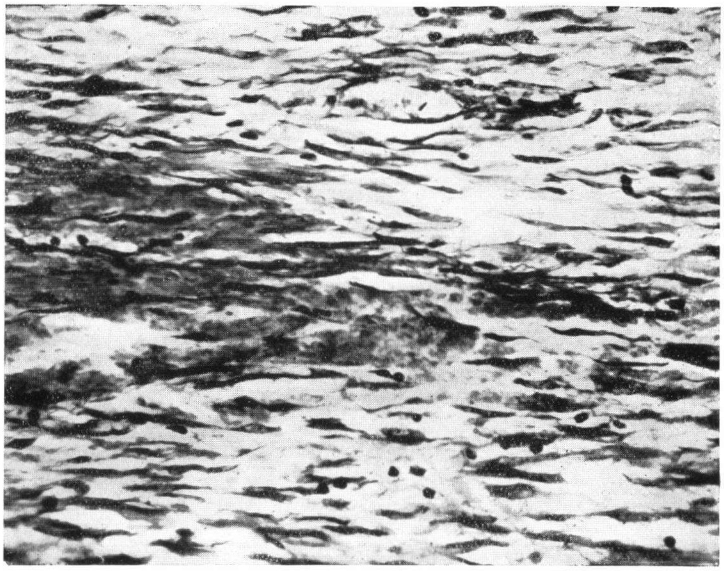


Fig. 4. Als Fig. 3. Vergr. 280 ×

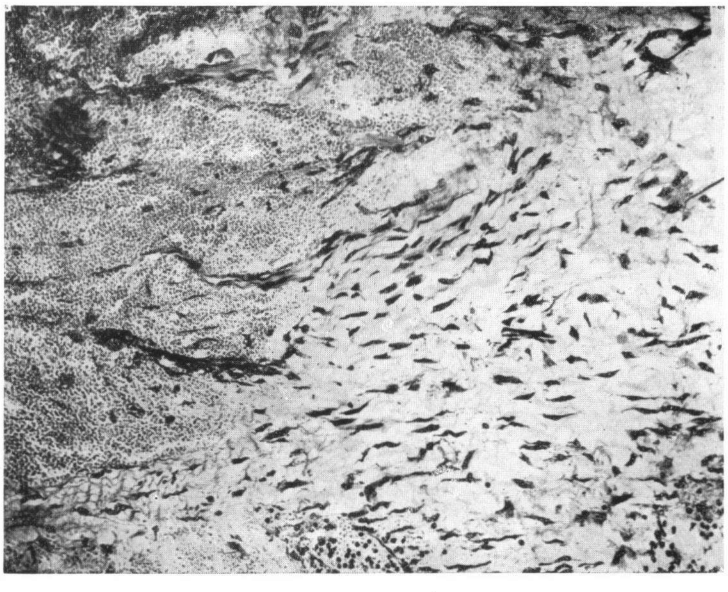


Fig. 5. Gecastreerde vrouwelijke cavia; dimenformon-relaxine.
Vergr. 135 ×



Fig. 6. Symphysis Cavia, 8 dagen na de baring; symphysis opengehouden door 7 inj. van 2 γ dimenformon. Donkerveld. Vergr. 319 ×

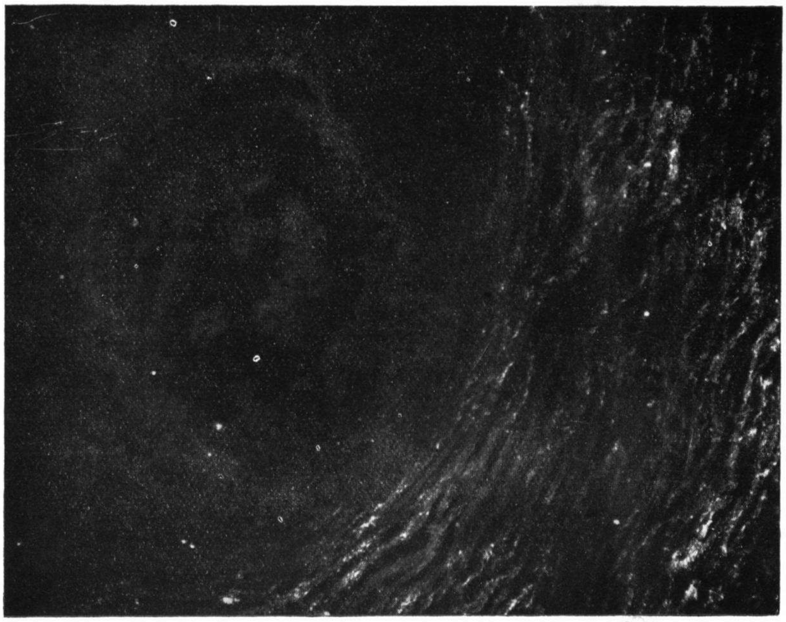


Fig. 7. Als Fig. 6. Contrôle (weglating substraat)

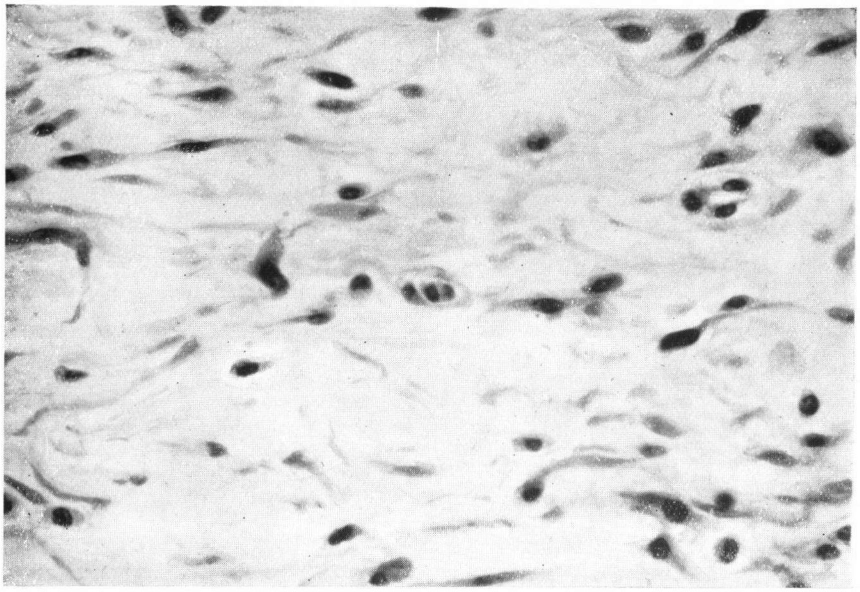


Fig. 8. Symphysis Cavia, 7 dagen na de baring opengehouden met 5 inj. 2 γ dimenformon. Haem.-Eos. Vergr. 510 ×

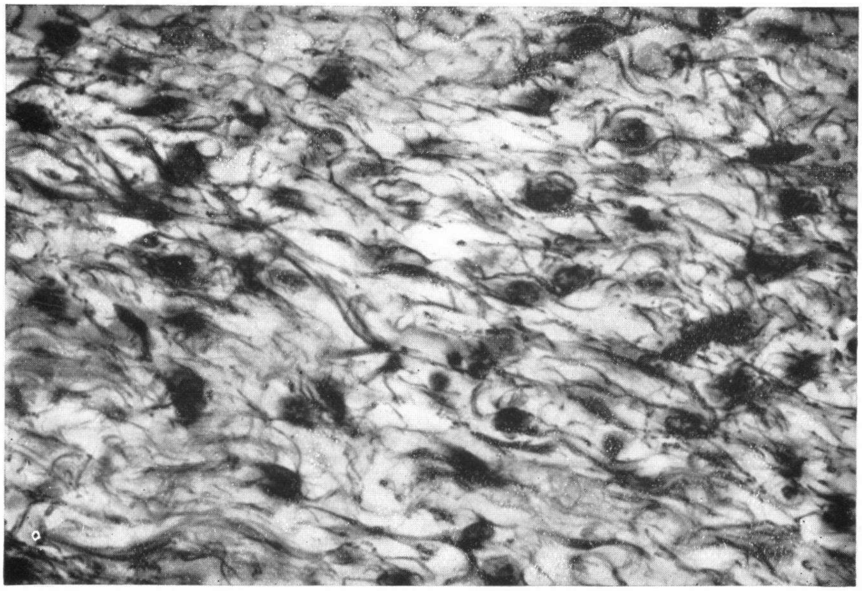


Fig. 9. Als Fig. 8. Impregnatie van Laguesse. Vergr. 510 ×

scheiden en geïdentificeerd hormon: relaxine (Fig. 5). Deze relaxine-werking is microscopisch gekarakteriseerd door een oedemateuze opzwelling van het bindweefsel: macroscopisch ziet het er glazig gezwollen uit, met bloed doorlopen. Microscopisch ziet men cellen en tussenstof door vochtruimten uiteengedreven, de fibrillenbundels zelf opgespleten in dunne, meer argentophiele vezels (vergelijkbaar met die in de hanekam). Het microscopische beeld is gecompliceerd door de veelvuldige bloedingen. Men besluit uit een en ander, dat de bloedvaten doorgankelijk worden en vocht en cellen laten uittreden. De metachromasie is verzwakt of weg, waarbij in het midden blijft, of dit het gevolg is van chemische afbraak van het mucoid dan wel alleen van verdunning door het verhoogde vochtgehalte van het weefsel. Physiologisch betekent de opzwelling van het bindweefsel een ontstaan van plasticiteit, welke het „opengaan" van de bekkenuitgang mogelijk maakt (VAN DER MEER). Merkwaardig is, dat de relaxatie — althans de microscopisch waarneembare verandering in het bindweefsel — ook teruggevonden wordt aan „voorbereide" bekkens, welke in vitro met relaxine worden behandeld (TALMAGE, VAN DER MEER).

We willen hier op de nadere analyse van deze relaxatie niet nader ingaan, maar mededeling doen van een aansluitend verschijnsel, dat door HERINGA, KROON en NEUMANN is bestudeerd.

ONDERZOEK NAAR WERKZAAMHEID VAN ALKALISCHE PHOSPHATASE IN HET INTERSYMPHYSAIRE BINDWEEFSEL

Sinds jaren is door KROON en NEUMANN gewerkt aan en met een methode tot bepaling van de activiteit van phosphatase in extracten van organen en weefsels en is het de opzet van hun werk voor deze activiteit verband te zoeken met aflopende stofwisselingsprocessen.

Een door GOMORI gepubliceerde methode tot histologische localisatie van de alkalische phosphatase is door RUYTER en NEUMANN aanmerkelijk verbeterd. Enige resultaten, verkregen door toepassing van deze technieken op het intersymphysaire bindweefsel bij de caviae, zullen we thans mededelen.

In de eerste plaats is gebleken, dat in het tijdens de graviditeit tot stand gekomen intersymphysaire bindweefsel, vergeleken met de overigens voor „normaal" bindweefsel gevonden waarden, een opvallend hoge activiteit van de alkalische phosphatase bestaat, welke direct na de partus tot veel lagere waarden afvalt (Tabel I).

Er is een enkele maal een schijnzwangerschap opgewekt door gedurende 3 weken dagelijks 2 γ dimenformon in te spuiten bij gecastreerde caviae.

Verder werden enige niet gecastreerde dieren ingespoten met 2 γ dimenformon per dag gedurende 2 weken (Tabel II). Het bleek verder, dat het als regel gelukt na de partus de bestaande diastase onverminderd in stand te houden door dagelijkse inspuiting van dezelfde dosis dimenformon, als welke men toepast om bij castraten de „quasi-graviditeits"diastase op te wekken

(Tabel III, Fig. 8, 9). In al deze gevallen gaat het voortbestaan van de diastase gepaard met overeenkomstig hoog blijven van de phosphatase-werkzaamheid.

Tabel I

Cavia	Activiteit v. d. alk. phosphatase
Halverwege graviditeit	220 B.E.[3])
1 à 2 dagen voor de partus . .	230 „
Vlak voor de partus	100 „
Direct na de partus	120 „
1 dag na de partus	60 „
4 dagen na de partus	40 „
8 „ „ „ „	30 „
10 „ „ „ „	15 „

Tabel II

Cavia	Activiteit v. d. phosphatase
♀̸ 3 weken 2 γ dimenformon/dag .	240 B.E.
♀̸ „ „ „ „	205 „
♀ 2 „ „ „	265 „
♀ „ „ „ „	135 „

Tabel III
(Proefdieren: 2 γ dimenformon/dag)

Aantal dagen na de partus	alk. phosphatase activiteit		gewicht bindweefsel	
	proefdier	contrôle	proefdier	contrôle
1		60		0.879
2	155			
3	310	100	0.463	0.580
3	280	60	0.515	0.198
4		40		
5	170	50	0.700	
6	320	35	0.165	0.262
6 weinig bindw.	70			
7	125	geen bindw.	0 584	geen bindw.
8	195	30	0.653	0.148
8	295	85	0.704	0.186
10		15		0.171
12	165		1.114	
12	155		1.077	
14	220		1.882	
7 7×2 γ 3 dagen rust	105		0.780	
7 7×2 γ 5 „ „	80		0.478	

3) B.E. = Bodansky eenheid = aantal mg P, dat na 1 uur bij 37° C, bij optimale pH, uit Na-β-glycerophosphaat is afgesplitst door 100 gr. weefsel.

Uit praeparaten, behandeld volgens de methode GOMORI-RUYTER blijkt de *localisatie van deze phosphatase in de cellen van het bindweefsel* (Fig. 6, 7).

BESPREKING

Boven (blz. 188) werd de waarschijnlijkheid geopperd, dat de geslachtshormonen op de beïnvloedbare bindweefsels aangrijpen via beïnvloeding van de stofwisseling der cellen. De vondst van de localisatie van de actieve phosphatase in de cellen van het zo typisch hormonaal geactiveerde intersymphysaire bindweefsel, maakt althans voor het onderhavige geval deze veronderstelling tot zekerheid.

We willen uitdrukkelijk niet trachten de vraag te beantwoorden in welk stofwisselingsproces deze phosphatase ingrijpt. De over het voorkomen van phosphatase-activiteit verzamelde gegevens zijn zó veelvuldig, maar ook tevens nog zó onsamenhangend, dat het ons ontoelaatbaar toeschijnt aan deze nog uitsluitend morphologische gegevens zonder stofwisselingsonderzoek een hypothese ad hoc vast te knopen. Slechts vragenderwijze, als richtsnoer voor verder werk, opperen we de mogelijkheid — waarvoor de coïncidentie der verschijnselen schijnt te pleiten — dat in casu de phosphatase te maken heeft met de mucoidvorming en wellicht met in het bijzonder de koolhydraatfacet daarvan.

Echter, zien we af van een dergelijke detaillering, dan geeft ons nochtans het medegedeelde onderzoek aanleiding tot een conclusie van algemene aard t.o.v. de beschouwingen, waarmede we deze mededeling hebben ingeleid. Het komt ons voor, dat deze moet luiden: dat de schematische beschouwing van de tussenstof van het bindweefsel als één extracellulaire materie, die onttrokken is aan stofwisselingsinvloeden, moet worden beschouwd als te zijn verouderd. Het is veeleer te verwachten, dat aan het tussenstofbindweefsel, meer dan tot dusver wordt vermoed, stofwisselings-activiteiten en waarschijnlijk zelfs ook wel constitutionele invloeden afleesbaar zullen blijken.

Dat hiermede, naar wij vermoeden, ook voor de vergelijkende microscopische anatomie nieuwe mogelijkheden worden geopend, doet ons gaarne deze korte mededeling bestemmen tot bijdrage in de bundel ter ere van Prof. Dr. J. E. W. IHLE.

LITERATUUR

BLIX, B. and O. SNELLMAN, 1945. Ark. f. Kemi, Mineral. o. Geologi, 19 A.
BOEKE, DE GROODT & HERINGA, 1948. Leerboek der Algemeene en Bijzondere Weefselleer, I (Algemeene Weefselleer), 2e druk.
CHAMPY, CH. et M. DEMAY, 1935. C. R. Soc. Biol., 119, p. 23.
COGAN, D. G. and E. O. HIRSCH, 1944. Arch. of Ophthalmology, 32.
FAURÉ FREMIET, E., 1933. C. R. Soc. Biol., 133, p. 715.
FREMERY, P. DE, S. KOBER und M. TAUSK, 1931. Acta Brevia Neerl., 1, p. 146.
GOMORI, G., 1939. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 42, p. 23.
GRAY, J. A., 1931. A textbook of experimental Cytology. Cambridge.
HERINGA, G. C. und S. E. DE JONGH, 1934. Ztschr. f. Zellf. u. mikr. Anat., 21, p. 629.
HERINGA, G. C. en A. WEIDINGER, 1940. Ned. Tdschr. v. Geneesk., 84, p. 4907.

HERINGA, G. C. and A. WEIDINGER, 1942. Acta Neerl. Morphol., 4, p. 291.
HISAW, F. L., 1926. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 23, p. 66.
KROON, D. B., H. NEUMANN et W. J. A. TH. KRAYENHOFF SLOOT, 1943-'45. Enzymologia, 11, p. 186.
KROON, D. B., H. NEUMANN and TH. A. VEERKAMP, 1948. Biochim. et Biophys. Acta, 2, p. 184.
KRUYT, H. R., 1931. Chem. Weekblad, 28, p. 148.
LEYNS, W. F., 1947. Mededeling (door G. C. Heringa) Cytologen Congres Stockholm, 1947; ter perse.
LIER, E. H. B. VAN, 1909. Proefschrift Utrecht.
MAXIMOW, A., 1929. Z. f. mikr.-anat. Forsch., 17, p. 625.
MEER, C. VAN DER, 1949. Verslag vergadering Endocrinologen Veren. Oss, 1949; ter perse.
NAGEOTTE, J., 1927. C. R. Soc. Biol. 96.
VAN NESTE TALMAGE, R., 1947. Anat. Rec., 99, p. 91.
ROULET, F., 1937. Erg. d. Pathol., 32.
RUYTER, J. H. C. and H. NEUMANN, 1949. Biochim. et Biophys. Acta, 3, p. 125.
SZIRMAI, J. A., ter perse.
WALBEEK, K. VAN, 1947. Proefschrift Amsterdam.
WILLIGEN, A. H. A. DE, 1933. Proefschrift Utrecht.